低氮条件下饲粮能量水平对藏羊尿嘌呤衍生物排出量和瘤胃微生物氮产量的影响[1]

郭亚敏[1] 王文基[2] 康婧鹏[1] 刘 虎[2,3] 景小平[2] 龙瑞军[2] 周建伟[3*]

（1.兰州大学草地农业科技学院，兰州 730020；2.兰州大学生命科学学院，兰州 730000；3.中国科学院西北生态环境资源研究院，兰州 730000）

摘 要：本试验旨在研究低氮条件下饲粮能量水平对藏羊尿嘌呤衍生物（PD）排出量和瘤胃微生物氮（MN）产量的影响，以期为藏羊冷季适宜的能氮补饲技术提供理论依据和数据支持。试验选取 5 只 1.5 周岁、体重[(47.7±2.46) kg]且体况相近的健康去势公藏羊，采用 4×4 拉丁方设计（其中 1 只藏羊为重复），进行消化代谢试验。试验期内分别饲喂粗蛋白质（CP）含量[（6.97±0.05）%]相近而消化能（DE）水平不同的 4 种饲粮，其 DE 水平分别为 8.21（低能饲粮）、9.33（中低能饲粮）、10.45（中高能饲粮）和 11.57 MJ/kg（高能饲粮）。整个试验分为 4 期，每期 21 d，包含 15 d 的预试期和 6 d 的正试期。结果显示：1）随着饲粮能量水平的升高，尿 PD 排出量和十二指肠 PD 吸收量均线性增加（$P<0.05$）。在尿 PD 各组分中，随饲粮能量水平的升高，尿酸排出量线性增加（$P<0.05$），尿囊素排出量呈现增加趋势（$0.05 \le P \le 0.10$），尿 PD 各组分排出量占 PD 排出量的百分比各组间无显著差异（$P>0.10$）。2）总可消化养分（TDN）摄入量随饲粮能量水平的升高而线性增加（$P<0.05$），但氮摄入量在各组间无显著差异（$P>0.10$）。随着饲粮能量水平的升高，尿氮排出量线性降低（$P<0.05$），而尿嘌呤氮排出量和嘌呤氮指数（PNI）均线性增加（$P<0.05$）。同时，瘤胃 MN 产量及微生物蛋白合成效率（MPS）也随着饲粮能量水平的升高而线性增加（$P<0.05$）。3）尿 PD 排出量、瘤胃 MN 产量与 TDN 摄入量存在较高的线性相关性，其模型方程分别为：尿 PD 排出量（mmol/d）=18.09TDN 摄入量（kg/d）-1.11（R^2=0.97）；瘤胃 MN 产量（g/d）=18.32TDN 摄入量（kg/d）-2.51（R^2=0.97）。4）氮平衡（NB）与可消化能摄入量（DEI）之间存在较高的线性相关性，其模型方程为：NB（g/d）=8.38DEI（MJ/kg $BW^{0.75}$）-3.58（R^2=0.68）。上述研究结果表明，当饲粮 CP 含量为 6.97%时，

收稿日期：2018-05-06

基金项目：国家自然科学基金项目（31601960，31672453）

作者简介：郭亚敏（1993-），女，甘肃天水人，硕士研究生，从事动物营养与饲料科学的研究。E-mail: guoym16@lzu.edu.cn

*通信作者：周建伟，助理研究员，E-mail: zhoujw@lzb.ac.cn

藏羊维持氮平衡的 DE 需要量为 0.43 MJ/kg $BW^{0.75}$；提高饲粮能量水平（DE 水平：8.21~11.57 MJ/kg）可提高藏羊瘤胃 MN 的合成量，改善饲粮氮素利用效率，从而弥补饲粮氮素匮乏的限制。因此，在青藏高原冷季，可通过补饲能量物质来提高藏羊对氮素营养胁迫的适应力。

关键词：藏羊；低氮条件；饲粮能量水平；尿嘌呤衍生物；瘤胃微生物氮产量

中图分类号：S816　　文献识别码：A　　文章编号：

藏羊作为我国三大原始绵羊品种之一，主要生活在海拔 3 000～5 000 m 的高寒地区[1]，是藏区人民在特殊自然环境下长期选育而成的关键畜种，其存栏量约为 5 000 万头，在我国畜牧业中占有重要地位[2]。千百年来，藏羊一直处在传统、粗放的饲养管理模式之下，全年在天然草地上自由放牧而没有任何补饲[3]。由于受特殊的地理环境和气候条件所限制，青藏高原牧草供应存在严重的季节性不平衡。在冷季，牧草生物量急剧下降，同时其营养物质含量也严重降低，粗蛋白质（CP）含量仅为 2.96%~10.44%[4]。在如此严酷的环境下，藏羊不但保证了自身种群的正常繁衍生息，而且还为牧民提供了优质的动物产品，这从侧面反映了藏羊对青藏高原的特殊环境产生了很强的适应性机制[5]。

反刍动物由于瘤胃的存在，因此具有不同于单胃动物的消化特点。反刍动物瘤胃中栖息着大量的微生物，一方面，它们帮助宿主动物降解纤维性碳水化合物，从而提供挥发性脂肪酸等能量物质；另一方面，瘤胃微生物利用动物摄入的营养物质进行微生物蛋白（microbial protein，MCP）合成，从而为宿主提供生长、生产和维持需要的绝大部分氨基酸资源。据报道，反刍动物小肠所吸收的氨基酸 1/2 以上来源于 MCP[6]。尤其是在给反刍动物饲喂粗饲料为主的饲粮时，瘤胃 MCP 几乎是其所需蛋白质的唯一来源[7]。研究表明，瘤胃 MCP 的产量与饲粮能量、蛋白质、矿物质、维生素和生长因子水平密切相关[8]。Zhou 等[9]研究发现，藏羊具有较低的氮素维持需要量[0.50 g/（kg $BW^{0.75}$ • d）]的特点，仅为相同体重下 NRC（1985）[10]绵羊的 66%。同时，当藏羊采食低氮饲粮时，其肝脏产生的尿素有 88%可重新循环进入消化道[5]，为瘤胃 MCP 合成提供氮源。因此，探究低氮条件下的瘤胃微生物氮（microbial nitrogen，MN）合成效率及其对饲粮能量水平的响应规律在指导藏羊冷季生产中具有重要的现实意义。

估测反刍动物瘤胃 MN 产量的传统方法主要是标记法[11]，总体上分为内源标记物和外源标记物两类。

用微生物标记物测定瘤胃 MN 产量的方法一般都要用到瘤胃或十二指肠瘘管，该方法不便于操作，测定步骤繁琐，在实践中难以推广利用，且违背动物福祉[12]。尿嘌呤衍生物（purine derivatives，PD）法因无损动物、简单易行、准确性高等优点，被广泛用于反刍动物 MCP 产量的估测[13-14]。其原理是反刍动物尿 PD 来源于十二指肠所吸收的微生物和机体蛋白质的嘌呤代谢终产物，而后者含量较少，可忽略不计。因此，尿 PD 与瘤胃 MCP 产量具有高度的相关性。经过几十年的发展，对尿 PD 法的研究已经得到适用于不同动物的估测模型，包括绵羊[15]、山羊[16]、黄牛[17]、肉牛[18]和牦牛[10]。目前，关于藏羊尿 PD 排出量的研究还相对较少，特别是在低氮条件下藏羊瘤胃 MCP 合成量对饲粮能量调控的响应规律还未见报道。基于此，本试验将通过模拟青藏高原冷季牧草 CP 含量，探究能量调控对藏羊尿 PD 排出量和瘤胃 MN 产量的响应规律，揭示藏羊特殊的氮代谢机制，从而为青藏高原藏羊生产实践中的冷季科学补饲提供理论依据和技术支持。

1　材料与方法

1.1　试验地点和日期

试验于 2016 年 11 月至 2017 年 1 月在甘肃省天祝藏族自治县安远镇兰州大学青藏高原生态系统管理国际中心乌鞘岭试验站（北纬 37°14′20.54″，东经 102°48′34.32″，海拔 3 154 m）进行。

1.2　试验动物与试验设计

试验选取 5 只 1.5 周岁、体重为（47.7±2.46） kg 且体况相近的健康去势公藏羊；采用 4×4 拉丁方设计，其中 1 只藏羊为重复，并分别饲喂低能饲粮、中低能饲粮、中高能饲粮和高能饲粮。整个试验分 4 期进行，每期 21 d，其中预试期 15 d，正试期 6 d。具体试验设计见表 1。

表 1　试验设计

Table 1　Experimental design

试验期	藏羊编号 Tibetan sheep number				
Experimental period	1	2	3	4	5
第 1 期 Period Ⅰ	A	B	C	D	D

第 2 期 Period Ⅱ	B	C	D	A	A
第 3 期 Period Ⅲ	C	D	A	B	B
第 4 期 Period Ⅳ	D	A	B	C	C

A：低能饲粮；B：中低能饲粮；C：中高能饲粮；D：高能饲粮。

A: low-energy diet; B: medium low-energy diet; C: medium high-energy diet; D: high-energy diet.

1.3 试验饲粮

试验饲粮的配制参照中国《肉羊饲养标准》（NY/T 816—2004）[19]和《中国饲料成分及营养价值表(2015年第 26 版)》[20]，4 种试验饲粮粗蛋白质含量[（6.97±0.05）%，模拟青藏高原冷季牧草粗蛋白质含量[4,21]，该值低于绵羊的最低蛋白质维持需要]相近，消化能（DE）水平分别为 8.21 MJ/kg（低能饲粮）、9.33（中低能饲粮）、10.45（中高能饲粮）和 11.57 MJ/kg（高能饲粮）。试验饲粮组成及营养水平见表 2。

表 2 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 2 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis) %

项目 Items	低能饲粮 Low-energy diet	中低能饲粮 Medium low-energy diet	中高能饲粮 Medium high-energy diet	高能饲粮 High-energy diet
原料 Ingredients				
玉米 Corn	9.22	12.75	16.00	20.85
玉米淀粉 Corn starch	2.35	7.00	12.40	16.15
蔗糖 Sucrose	0.55	1.65	2.20	3.00
糖蜜 Molasses	0.55	1.65	2.15	3.00

小麦麸 Wheat bran	2.50	1.46	1.28	0.80
豆粕 Soybean meal	1.20	1.65	1.54	1.32
棉籽粕 Cotton seed meal	1.56	1.36	1.34	1.25
豆油 Soybean oil	0.06	0.42	1.00	1.50
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.63	0.66	0.60	0.53
碳酸钙 $CaCO_3$	0.18	0.20	0.29	0.40
食盐 NaCl	0.60	0.60	0.60	0.60
预混料 Premix[1)]	0.60	0.60	0.60	0.60
青稞秸秆 Highland barley straw	80.00	70.00	60.00	50.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]				
消化能 DE/(MJ/kg)	8.21	9.33	10.45	11.57
粗蛋白质 CP	6.97	6.96	6.91	7.02
中性洗涤纤维 NDF	68.41	60.15	51.97	44.37
酸性洗涤纤维 ADF	37.02	32.49	28.09	23.76
钙 Ca	0.52	0.51	0.50	0.49

磷 P	0.27	0.27	0.26	0.25

1)预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 1 700 IU，VD 190 IU，VE 18 IU，Co 0.30 mg，Cu 17 mg，I 1.5 mg，Fe 70 mg，Mn 38 mg，Se 0.28 mg，Zn 40 mg。

2)消化能为计算值，参考《中国饲料成分及营养价值表(2015 年第 26 版)》[20]计算，其余为实测值。DE was a calculated value according to *Chinese Feed Ingredients and Nutritional Value Table* (26th ed, 2015)[20], while the Others were measured values.

1.4 饲养管理

试验前注射伊维菌素对藏羊进行驱虫处理，同时对圈舍及所用器具进行清洁和消毒。试验羊单笼饲养，每天分 2 次（08:00 和 17:00）采用全混合日粮（TMR）方式饲喂，每日饲喂量为代谢体重（$BW^{0.75}$）的 4.5%（干物质基础），自由饮水。在晨饲前收集前 1 天的剩料，准确记录每只羊的采食量。为减少藏羊在试验过程中产生应激反应，在试验开始前对藏羊进行为期 20 d 的适应期，以使试验动物适应饲养环境和试验饲粮。

1.5 样品采集与分析

1.5.1 样品采集与处理

试验开始后的第 16 天，即正试期第 1 天的 08:00（饲喂前）开始采用全收粪尿法收集粪便和尿液，连续收集 5 d，并记录每头藏羊每天的尿液排出量和粪便排出量。粪便按四分法取样，采集其总量的 10%装入自封袋中，于-20 ℃保存备测。尿液混合均匀后按其总量的 10%取样，用 50%的硫酸溶液对尿液进行酸化，使 pH<3.0，以固定尿中氮和抑制微生物生长。并于-20 ℃保存待测。

1.5.2 测定方法及计算公式

藏羊尿 PD（尿囊素、尿酸、黄嘌呤和次黄嘌呤）的含量采用高效液相色谱仪（Agilent，LC-1200）测定。液相色谱条件：色谱柱为菲罗门 synergi 4u hydro-RP80A（250×4.6 mm）；柱温为 35 ℃；样品温度为室温；进样体积为 10 μL；检测波长为 220 nm；流动相为 30 mmol/L 乙酸铵；流速为 1 mL/min，

等度洗脱。具体方法参照李晓鹏等[22]的方法。饲粮、尿液和粪便中氮含量采用凯氏定氮法[23]测定。

氮平衡（NB，g/d）＝食入氮（g/d）－粪氮排出量（g/d）－尿氮排出量（g/d）；

尿 PD 排出量(mmol/d)=尿囊素排出量(mmol/d)+尿酸排出量(mmol/d)+黄嘌呤排出量(mmol/d)+次黄嘌呤排出量（mmol/d)。

藏羊瘤胃 MN 产量根据 Chen 等[24]所建立的模型进行计算，即根据藏羊小肠吸收嘌呤量计算藏羊瘤胃 MN 产量。具体公式如下：

Y=0.84X+0.150BW$^{0.75}$·e$^{-0.25x}$。

式中：X 指小肠吸收的嘌呤量；Y 指尿 PD 排出量；BW$^{0.75}$ 指代谢体重(kg)。

MN 产量(g/d)=(X×70)/0.83×0.116×1000=0.727X。

式中：X 指小肠吸收的嘌呤量；70 指每毫摩尔嘌呤含 70 mg 氮；0.83 指微生物核酸的消化率为 83%；0.116 指绵羊瘤胃微生物中嘌呤氮占总氮的比例为 11.6%。

总可消化养分（TDN）摄入量、嘌呤氮指数（PNI）MCP 产量和 MCP 合成效率（MPS）计算公式如下：

TDN 摄入量=（摄入 CP－粪中排出 CP）+[摄入中性洗涤纤维（NDF）－粪中排出 NDF]+[摄入无氮浸出物（NFE）－粪中排出 NFE]+｛2.25×[摄入粗脂肪（EE）－粪中排出 EE]｝[25]；

PNI=尿嘌呤氮排出量/尿氮排出量[26]；

MCP 产量=MN 产量×6.25；

MPS=MCP 产量/TDN 摄入量[27]。

1.6 数据统计

所有试验数据用 Excel 2007 软件进行预处理。采用 SPSS 22.0 软件中一般线性模型（general linear model,GLM）中的多项式正交对比模块进行单变量分析。P<0.05 表示差异显著，P>0.10 为差异不显著，0.05≤P≤0.10 表示差异有显著趋势。

2 结果与分析

2.1 低氮条件下饲粮能量水平对藏羊尿 PD 排出量、PD 各组分排出量及小肠吸收嘌呤量的影响

由表 3 可知，随着饲粮能量水平的升高，尿 PD 排出量和十二指肠 PD 吸收量均线性增加（P<0.05）。在尿 PD 各组分中，随饲粮能量水平的升高，尿酸排出量线性增加（P<0.05），尿囊素排出量呈现增加趋势（0.05≤P≤0.10），次黄嘌呤排出量呈三次曲线式变化（P<0.05），但黄嘌呤排出量不受饲粮能量水平的显著影响（P>0.10）。此外，尿 PD 各组分排出量占 PD 排出量的百分比各组间无显著差异（P>0.10）。

表 3 低氮条件下饲粮能量水平对藏羊尿 PD 排出量的影响

Table 3 Effects of dietary energy level on urinary PD excretion of Tibetan sheep under low nitrogen condition

	组别 Groups					*P* 值 *P*-value		
项目 Items	低能饲粮 Low-energy diet	中低能饲粮 Medium low-energy diet	中高能饲粮 Medium high-energy diet	高能饲粮 High-energy diet	均值标准误 SEM	线性 Linear	二次 Quadratic	三次 Cubic
尿囊素排出量 Allantoin excretion/(mmol/d)	3.65	4.49	4.89	5.18	0.699	0.053	0.597	0.881
尿酸排出量 Uric acid excretion/(mmol/d)	0.77	0.80	0.83	1.09	0.042	<0.010	0.004	0.162
次黄嘌呤排出量 Hypoxanthine excretion/(mmol/d)	0.35	0.74	0.41	0.69	0.105	0.073	0.437	0.004
黄嘌呤排出量 Xanthine excretion/(mmol/d)	0.39	0.34	0.28	0.68	0.167	0.163	0.095	0.414
嘌呤衍生物排出量 PD	5.16	6.37	6.42	7.64	0.786	0.017	0.990	0.37

excretion/(mmol/d)								7
十二指肠嘌呤衍生物吸收量 Duodenal PD absorption/(mmol/d)	5.27	6.99	7.08	8.72	1.093	0.017	0.964	0.391
占 PD 排出量的百分比 Percentage of PD excretion/%								
尿囊素 Allantoin	70.32	69.49	76.17	67.96	3.745	0.974	0.202	0.095
尿酸 Uric acid	15.14	12.74	13.13	14.48	1.588	0.760	0.135	0.724
次黄嘌呤 Hypoxanthine	6.70	11.96	6.26	8.96	1.513	0.828	0.265	0.004
黄嘌呤 Xanthine	7.84	5.81	4.44	8.60	2.487	0.911	0.116	0.551

同行肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

Values with different lowercase superscripts in the same line indicate significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2 低氮条件下饲粮能量水平对藏羊瘤胃 MN 产量及 PNI 的影响

由表 4 可知，TDN 摄入量随饲粮能量水平的升高而线性增加（P<0.05），但是氮摄入量在各组间无显著差异（P>0.10）。随着饲粮能量水平的升高，尿氮排出量线性降低（P<0.05），而尿嘌呤氮和 PNI 均线性增加（P<0.05）。瘤胃 MN 产量及 MPS 均随饲粮能量水平的升高而线性增加（P<0.05）。

表 4 低氮条件下饲粮能量水平对藏羊瘤胃 MN 产量及 PNI 的影响

Table 4 Effects of dietary energy level on rumen MN production and PNI of Tibetan sheep under low nitrogen condition

项目 Items	组别 Groups				均值标准误 SEM	*P* 值 *P*-value		
	低能饲粮 Low-energy diet	中低能饲粮 Medium low-energy diet	中高能饲粮 Medium high-energy diet	高能饲粮 High-energy diet		线性 Linear	二次 Quadric	三次 Cubic
总可消化养分摄入量 TDN intake/(kg/d)	0.36	0.43	0.45	0.52	0.026	<0.010	0.956	0.241
氮摄入量 N intake/(g/d)	8.82	8.86	8.60	9.12	0.214	0.385	0.150	0.142
尿氮排出量 Urinary N excretion/(g/d)	3.10	2.84	2.37	2.45	0.308	0.030	0.445	0.458
嘌呤氮排出量 PDN excretion/(g/d)	0.29	0.36	0.36	0.43	0.044	0.017	0.990	0.377
嘌呤氮指数 PNI	0.09	0.13	0.15	0.17	0.017	<0.010	0.693	0.945
微生物氮产量 MN production/(g/d)	3.70	4.99	5.43	6.34	0.728	<0.010	0.721	0.579
微生物蛋白合成效率 MPS/(g/kg TDN)	59.78	64.08	74.60	81.29	9.476	0.037	0.931	0.746
微生物氮产量/氮摄入量 MN production/N intake/%	41.94	56.40	63.14	69.58	8.436	<0.010	0.802	0.752

134 2.3 TDN 摄入量与尿 PD 排出量和瘤胃 MN 产量之间的相关性分析

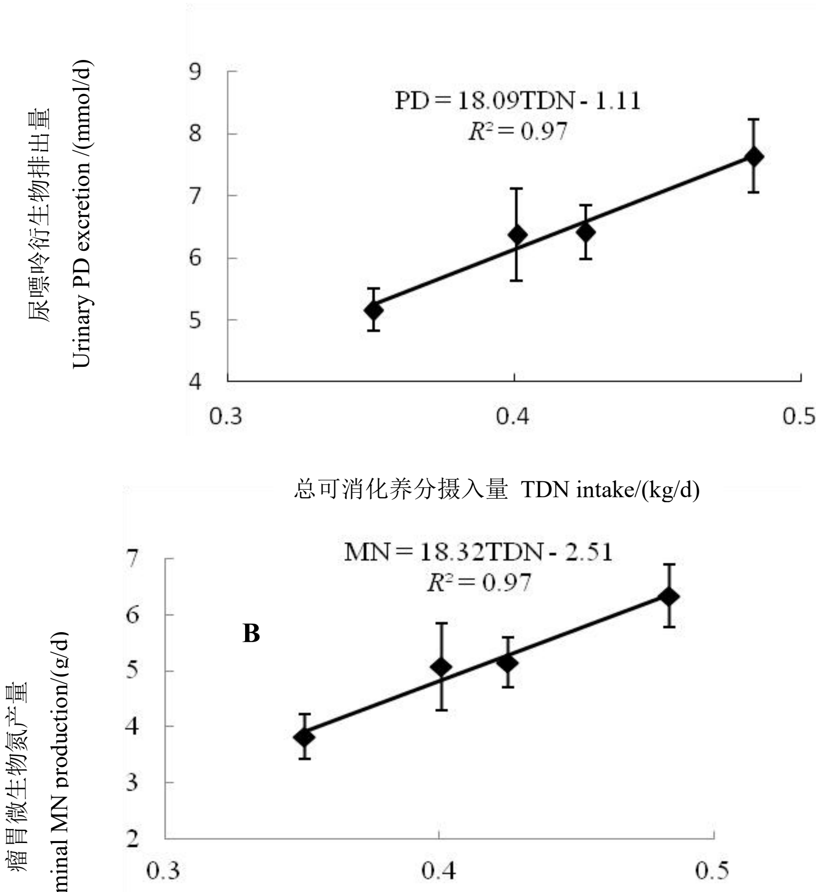
由于 TDN 摄入量(kg/d)与尿 PD 排出量(mmol/d)、瘤胃 MN 产量(g/d)之间具有较强的线性相关关系（表 5），通过线性回归分析建立了它们之间的数学模型（图 1），模型如下：尿 PD 排出量=18.09TDN 摄入量-1.11(n=20，R^2=0.97)；瘤胃 MN 产量=18.32TDN 摄入量-2.51(n=20，R^2=0.97)。

表 5　TDN 摄入量与尿 PD 排出量和瘤胃 MN 产量的相关性

Table 5　Correlations between TDN intake and urinary PD excretion or ruminal MN production

项目 Items	总可消化养分摄入量 TDN intake	尿 PD 排出量 Urinary PD excretion	瘤胃微生物氮产量 Ruminal MN production
总可消化养分摄入量 TDN intake	1.000	0.847**	0.855**
尿 PD 排出量 Urinary PD excretion		1.000	0.999**
瘤胃微生物氮产量 Ruminal MN production			1.000

**：极显著相关 extremely significant correlation。



总可消化养分摄入量 TDN intake/(kg/d)

图 1 尿 PD 排出量（A）和瘤胃 MN 产量（B）与 TDN 摄入量的相关关系

Fig.1 Correlation relationships between TDN intake and urinary PD excretion (A) or ruminal MN production (B)

2.4 NB 与可消化能摄入量（DEI）之间的线性关系

由于 NB（g/d）与 DEI（MJ/kg $BW^{0.75}$）之间呈现较高的线性相关关系，通过线性回归分析建立了它们之间的数学模型（图 2），模型如下：NB=8.38DEI-3.58(n=20,R^2=0.68)。

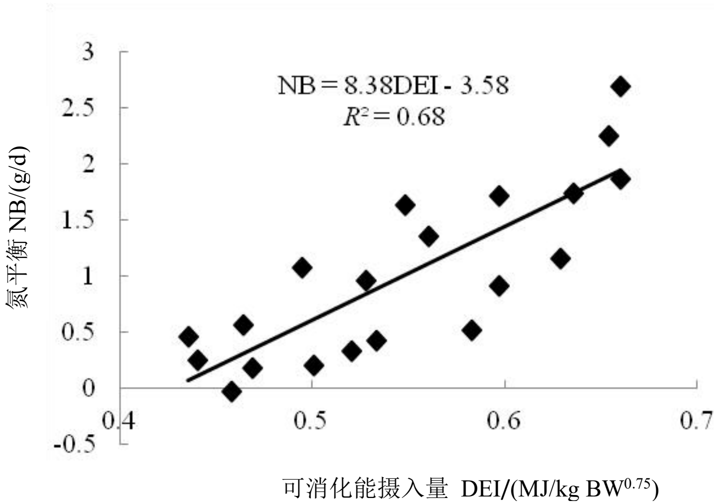


图 2 NB 与 DEI 的相关关系

Fig.2 Correlation relationship between NB and DEI

3 讨 论

3.1 低氮条件下藏羊尿 PD 排出量对饲粮能量水平的响应规律

尿 PD 是反刍动物体内嘌呤代谢的终产物，其排出量受多种因素的影响，包括营养物质（干物质、蛋

白质和能量等）采食量、饲料添加剂的使用、体重和动物种类等[16]。对于反刍动物而言，尿 PD 主要来源于小肠吸收的核酸嘌呤（大多源自微生物核酸）。因此，尿 PD 排出量和瘤胃 MCP 合成量存在高度的正相关性。

反刍动物尿 PD 各组分中，尿囊素和尿酸所占比重较大[27]，而次黄嘌呤和黄嘌呤所占比重较小[28-29]。本试验结果显示，藏羊尿囊素、尿酸、次黄嘌呤+黄嘌呤排出量占尿 PD 排出量的变化范围分别为 67%～76%、12%～15%和 10%～17%，其中尿囊素和尿酸排出量占比略低于 Chen 等[30]在绵羊上的报道，而次黄嘌呤+黄嘌呤排出量占比略高于 Chen 等[30]所报道的范围。研究发现，黄牛[31]和牦牛[32]尿 PD 中黄嘌呤和次黄嘌呤含量很低或者几乎没有（<1%），这是因为牛属动物体内血液、肝脏和肠道黏膜细胞中具有较高的黄嘌呤氧化酶活性，次黄嘌呤和黄嘌呤较易被氧化而形成尿酸或尿囊素。因此，本试验中藏羊比其他绵羊尿 PD 中相对较高的次黄嘌呤和黄嘌呤含量可能也与体内较低的黄嘌呤氧化酶活性有关。

随饲粮能量水平的升高，尿囊素排出量呈线性增加趋势，尿酸排出量线性增加。因此，本试验中尿 PD 排出量变化主要是由于尿囊素和尿酸排出量的变化引起的。藏羊尿 PD 排出量随饲粮能量水平的升高而增加，这与 Deshpande 等[33]、Fujihara 等[34]和 Chen 等[35]在绵羊上报道的变化趋势一致。一方面，可能是因为随饲粮能量水平的升高，促使瘤胃中可发酵碳水化合物增加，从而促进微生物的生长和 MCP 的合成，最终导致尿 PD 排出量的增加[36]；另一方面，可能是因为精料比随饲粮能量水平的升高而增加，使瘤胃食糜的排出速度加快，减少了原虫对细菌的吞食作用，从而提高微生物进入真胃和小肠的速度，最终提高了 MCP 产量和尿 PD 排出量[30]。前人的研究表明，绵羊[15]、黄牛[17]、牦牛[10]尿中 PD 随 TDN 摄入量的提高而增加，这与本试验在藏羊上的研究结果相同，并且得到了尿 PD 排出量和 TDN 摄入量两者之间的线性模型：PD 排出量=18.09TDN 摄入量-1.11（R^2=0.97）。当 TDN 摄入量=0 时，PD 排出量=-1.11 mmol/d[即-0.06 mmol/(kg $BW^{0.75}$ •d)]，可用于内源 PD 排出量的估测。该值低于刘浩等[37]在绵羊上得到的内源 PD 排出量[0.09 mmol/(kg $BW^{0.75}$ • d)]，但高于马涛等[38]在绵羊上得到的内源 PD 排出量[-0.14 mmol/(kg $BW^{0.75}$ • d)]。然而，在 Chen 等[24]所建立的估测模型中，绵羊内源 PD 排出量为 0.150 mmol/(kg $BW^{0.75}$ • d)，这可能会高估了本试验中藏羊内源 PD 排出量，从而导致低估本试验中藏羊 MN 产量。就绵羊而言，通过延长尿 PD 排出量

和 TDN 摄入量的回归直线得到的内源 PD 排出量并不能代表其真实内源 PD 排出量，这是因为随 TDN 摄入量升高，尿 PD 排出量也相应增加，而内源 PD 排出量则会降低，当尿 PD 排出量高于 0.6 mmol/(kg $BW^{0.75}$ • d)[15]时，内源 PD 排出量则可忽略不计，因此，绵羊的内源 PD 排出量并非一个恒定值，会随着饲粮营养物质摄入量的不同而产生变化。

3.2 低氮条件下瘤胃 MN 产量和 PNI 对饲粮能量水平的响应规律

反刍动物能够借助瘤胃内栖居的厌氧微生物，利用饲粮蛋白质降解产生的氨、肽和氨基酸作为氮源，以及饲粮有机物发酵产生的挥发性脂肪酸和 ATP 分别作为碳架和能量合成 MCP[10]。MCP 是反刍动物重要的氮源供应者，其能向宿主动物提供蛋白质需要量的 40%~80%[7]，尤其当饲粮氮摄入较低时，其对于反刍动物氮素营养的供需平衡意义更为重要。MCP 合成受多种因素的影响，包括饲粮碳水化合物含量、氮的存在形式、维生素含量、矿物质含量、饲粮饲喂频率、添加剂类型和纤维种类及含量等[9]。本试验结果表明，低氮条件下，瘤胃 MN 产量随饲粮能量水平的升高而增加，这可能是由于饲粮能量水平提高增加了瘤胃可发酵碳水化合物数量，从而促进了微生物的生长和 MN 合成，这与 Fujihara 等[34]在绵羊上的研究结果相一致，但与 Chen 等[24]的研究结果相反。NRC（2001）[39]中用 TDN 摄入量估测 MCP 产量，因此 MPS 和瘤胃 MN 产量/氮摄入量均可反映瘤胃微生物将饲粮氮转化为 MN 的效率，并且通过建立数学模型：MN 产量(g/d)=18.32TDN 摄入量(kg/d)-2.51，得到 TDN 摄入量与 MN 产量存在线性相关(R^2=0.97)，方程斜率表示单位 TDN 摄入量的 MN 合成量，该值高于 NRC（1996）[40]中肉牛上所得到的斜率值，且达到了 2 倍之多，这也从侧面反映了藏羊 MN 较高的合成效率。本试验中 MPS 和 MN 产量/氮摄入量均随饲粮能量水平的升高而线性增加，这表明，在低氮条件下，饲粮能量水平的升高有利于将饲粮氮转化为 MN；而在饲粮能量供应不足时会抑制微生物的活性，从而使得饲粮氮转化为 MN 的效率变低；同时，这也证实了藏羊高效的饲粮氮素利用效率必须要有充足的能量作为保障。另外，根据 NB 与 DEI 的线性模型可以估测，当 NB 为 0 时，DEI 为 0.43 MJ/kg $BW^{0.75}$，即当饲粮 CP 含量为 6.97%时（模拟冷季牧草 CP 含量），藏羊维持氮平衡需要的 DE 为 0.43 MJ/kg $BW^{0.75}$。

PNI 受动物品种及饲粮组成等因素的影响，是一种简单、有效估测饲粮中可降解蛋白转化为 MCP 效

率的指标，并且该指数能够与饲粮蛋白质摄入及可降解能力相结合，PNI 越高，表明瘤胃降解氮合成 MCP 的效率较高[41]。PNI 在实际生产中的应用可有效改善反刍动物饲养管理，提高氮素利用效率，减少氮素排泄[25,42]。本试验结果表明，PNI 变化范围在 0.09~0.17，低氮条件下，PNI 随饲粮能量水平的升高而线性升高。这与 Wang 等[43]发现 PNI 随牦牛干草采食量增加而升高的研究结果相似。本试验中，高能量、低氮条件下较高的 PNI 表明，藏羊在氮素胁迫下，瘤胃微生物利用饲粮可降解蛋白的效率随饲粮能量水平的升高而升高，以弥补饲粮氮素匮乏的限制，从而为藏羊提供更多的氮源。

4 结　论

当饲粮 CP 含量为 6.97%时，藏羊维持氮平衡的 DE 需要量为 0.43 MJ/kg $BW^{0.75}$；提高饲粮能量水平（DE 水平：8.21~11.57 MJ/kg）可提高藏羊瘤胃 MN 的合成量，改善饲粮氮素利用效率，从而弥补饲粮氮素匮乏的限制。因此，在青藏高原冷季，可通过补饲能量物质来提高藏羊对氮素营养胁迫的适应力。

参考文献:

[1] LONG R J,DONG S K,WEI X H,et al.The effect of supplementary feeds on the bodyweight of yaks in cold season[J].Livestock Production Science,2005,93(3):197–204.

[2] 向泽宇,王长庭.青藏高原藏羊遗传资源的现状、存在问题及对策[J].中国畜牧兽医文摘,2011,27(2):1–4.

[3] ZHOU J W,GUO X S,DEGEN A A,et al.Urea kinetics and nitrogen balance and requirements for maintenance in Tibetan sheep when fed oat hay[J].Small Ruminant Research,2015,129:60–68.

[4] 谢敖云,柴沙驼,王万邦,等.高山草甸草地牧草产量及其营养变化规律[J].青海畜牧兽医杂志,1996,26(2):8–10.

[5] 周建伟.藏羊对青藏高原氮素营养胁迫的适应性研究[D].博士学位论文.兰州:兰州大学,2015.

[6] AFRC.Technical Committee on Responses to nutrients.Nutritive requirements of ruminant animal:protein[Z].AFRC Technical Committee on Response to Nutrients.Report No. 9.Nutrition Abstracts and Reviews (Series B),1992,62:787–835.

[7] ØRSKOV E R.Protein nutrition in ruminants[M].2nd ed.London:The Academic Press,1992.

[8] 王虎成.尿嘌呤衍生物排出量估测青藏高原牦牛瘤胃微生物蛋白产量研究[D].博士学位论文.兰州:兰州大学,2009:60–64.

[9] ZHOU J W,MI J D,TITGEMEYER E C,et al.A comparison of nitrogen utilization and urea metabolism between Tibetan and fine-wool sheep[J].Journal of Animal Science,2015,93(6):3006–3017.

[10] NRCl.Nutrient requirements of sheep[S].6th ed.Washington,D.C.:National Academies,1985.

[11] BRODERIC G A,MERCHEN N P.Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rume[J].Journal of Dairy Science,1992,75(9):2618–2632.

[12] 郭辉，杨膺白，李丽莉，等.尿液嘌呤法估测瘤胃微生物蛋白研究[J].中国草食动物,2007(6):59–62.

[13] 钟伟,李光玉,罗国良.尿液嘌呤衍生物法估测瘤胃微生物蛋白产量的研究进展[J].家畜生态学报,2008,29(1):99 - 102.

[14] 王虎成,龙瑞军,马亚玲,等.尿嘌呤衍生物估测瘤胃微生物蛋白产量的原理及研究进展[J].饲料工业,2008,29(1):47–51.

[15] CHEN X B,HOVELL F D D,ØSKOV E R,et al.Excretion of purine derivatives by ruminants:effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep[J].British Journal of Nutrition,1990,63(1):131–142.

[16] BELENGUER A,YAEÑZ D,BALCELLS J,et al.Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats[J].Livestock Production Science,2002,77(2/3):127–135.

[17] VERBIC J,CHEN X B,MACLEOD N A,et al.Excretion of purine derivatives by ruminants.Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers[J].The Journal of Agricultural Science,1990,114(3):243–248.

[18] IRIKI T,ITOH K,ABE M.Weight Gain,N-balance and excretion of purine derivatives into urine in calves aged 3~6 months and fed diets differing in CP level and in N-source[J].Nihon Chikusan Gakkaiho,1989,60(10):916–922.

[19] 中华人民共和国农业部.NY/T 816–2004 肉羊饲养标准[S].北京:中国农业出版社,2004.
[20] 熊本海,罗清尧,赵峰,等.中国饲料成分及营养价值表(2015 年第 26 版)制订说明[J].饲料广角,2015(21):21–31.
[21] 淡瑞芳,张海涛,龙瑞军,等.藏系绵羊瘤胃细菌数量及其放牧地牧草养分随季节变化的研究[J].草业学报,2009,18(1):100–104.
[22] 李晓鹏,周围,王虎成,等.高效液相色谱法对牦牛血浆与尿中嘌呤衍生物及肌酐含量的测定[J].分析测试学报,2009,28(7):867–871.
[23] AOAC.Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists[S].15th ed.Washington,D.C.:Association of Official Analytical Chemists,1990.
[24] CHEN X B,CHEN Y K,FRANKLIN M F,et al.The effect of feed intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep[J].Journal of Animal Science,1992,70(5):1534–1542.
[25] ZHANG Y,ZHOU J W,GUO X S,et al.Influences of dietary nitrogen and non-fiber carbohydrate levels on apparent digestibility,rumen fermentation and nitrogen utilization in growing yaks fed low quality forage based-diet[J].Livestock Science,2012,147(1/2/3):139–147.
[26] CHEN X B,SUBBA D B,ØRSKOV E R,et al.Nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock:purine nitrogen index,potentially a new parameter for rapid feed evaluation in ruminants[C]//Proceedings of the Second Research Coordination Meeting of a Coordinated Research Project.Vienna,Austria:FAO,1998:97–110.
[27] BALCELLS J,GUADA J A,CASTRILLO C,et al.Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum[J].The Journal of Agricultural Science,1991,116(2):309–317.
[28] 钟伟,龙瑞军,LIANG J B,等.不同比例香根草日粮对沼泽性水牛尿嘌呤衍生物排出量的影响[J].甘肃农

业大学学报,2007,42(1):25–29.

[29] CHEN X B.Excretion of purine derivatives by sheep and cattle and its use for the estimation of absorbed microbial protein[D].Ph.D.Thesis.Aberdeen:University of Aberdeen,1989.

[30] CHEN X B,GOMES M J.Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives.An overview of technical details[C]//International Feed Resources Unit,Occasional Publication.Aberdeen,UK:Rowett Research Institute,1995.

[31] 李丽莉,梁坤,韦升菊,等.不同日粮采食水平对青年母水牛尿中嘌呤衍生物排出规律的影响研究[J].黑龙江畜牧兽医(科技版),2009(23):11–14.

[32] 王惟惟,王传洋,郝力壮,等.饲粮氮水平对牦牛尿嘌呤衍生物排出量与瘤胃微生物氮产量的影响[J].动物营养学报,2017,29(11):3932–3941.

[33] DESHPANDE K Y,MEHRA U R,SINGH P,et al.Purine derivatives concentration in body fluids as influenced by different energy levels in dairy cows[J].The Indian Journal of Animal Sciences,2011,81(12):1244–1247.

[34] FUJIHARA T,SHEM M N,NAKAMURA K.Effect of dietary energy levels on the urinary excretion of purine derivatives in sheep[J].Animal Science Journal,2005,76(5):441–445.

[35] CHEN X B,SAMARAWEERA L,KYLE D J,et al.Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase (EC 1.2.3.2) activity in buffaloes (*Bubalis bubalis*) with special reference to differences between buffaloes and *Bos taurus* cattle[J].British Journal of Nutrition,1996,75(3):397–407.

[36] JETANA T,SUTHIKRAI W,USAWANG S,et al.The effects of concentrate added to pineapple (*Ananas Comosus linn`. Mer`.*) waste silage in differing ratios to form complete diets,on digestion,excretion of urinary purine derivatives and blood metabolites in growing,male,Thai swamp buffaloes[J].Tropical Animal Health and Production,2009,41(4):449–459.

[37] 刘浩,周建伟,张瑛,等.燕麦干草对藏羊尿中嘌呤衍生物、肌酐及马尿酸排出量的影响[J].家畜生态学

报,2014,35(9):38–44.

[38] 马涛.肉羊瘤胃微生物蛋白质合成量预测方法的研究[D].博士学位论文.北京：中国农业科学院，2014.

[39] NRC.Nutrient requirements of dairy cattle[S].7th ed.Washington,D.C.:The National Academies,2001.

[40] NRC.Nutrient requeriments of beef cattle[J].1996.

[41] 马涛.肉羊瘤胃微生物蛋白质合成量预测方法的研究[D].博士学位论文.北京:中国农业科学院,2014.

[42] MAKKAR H P S,CHEN X B.Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives[M].Netherlands:Springer,2004.

[43] WANG H C,LONG R J,LIANG J B,et al.Comparison of nitrogen metabolism in yak (*Bos grunniens*) and indigenous cattle (*Bos taurus*) on the Qinghai-Tibetan Plateau[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2011,24(6):766–773.

Effects of Dietary Energy Level on Urinary Purine Derivatives Excretion and Ruminal Microbial Nitrogen Production of Tibetan Sheep under Low Nitrogen Condition

GUO Yamin[1] WANG Wenji[2] KANG Jingpeng[1] LIU Hu[2,3] JING Xiaoping[2] LONG Ruijun[2] ZHOU Jianwei[3*]

(1. *College of Pastoral Agriculture Science and Technology of Lanzhou University*, *Lanzhou* 730000, *China*; 2. *School of Life Sciences of Lanzhou University*, *Lanzhou* 730000, *China*; 3. *Northwest Institute of Eco-Environment and Resources*, *Chinese Academy of Sciences*, *Lanzhou* 730000, *China*)

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of dietary energy level on urinary purine derivatives (PD) excretion and ruminal microbial nitrogen production of Tibetan sheep under low nitrogen condition, and to impart a theoretical basis and data support for the appropriate energy and nitrogen supplementation technology for Tibetan sheep in the cold season. Five 1.5-year-old castrated female Tibetan sheep with the body weight of （47.7±2.46） kg and similar body condition were selected, subsequently utilized in the

*Corresponding author, assistant professor, E-mail: zhoujw@lzb.ac.cn (责任编辑　菅景颖)

digestion and metabolism tests with a 4×4 Latin square design (one of the sheep as replicate). Sheep were respectively fed four diets with similar crude protein (CP) content [(6.97±0.05)%] and variable digestible energy (DE) levels throughout the experiment. The DE level in the four diets was 8.23 (low-energy diet), 9.31 (medium low-energy diet), 10.45 (medium high-energy diet) and 11.57 MJ/kg (high-energy diet), respectively. The overall experiment consisted of 4 periods and each lasted for 21 d, permitting a 15-d pre-test and a 6-d post-test period. The results showed as follows: 1) with the increase of dietary energy level, both urinary PD excretion and duodenal PD absorption were linearly increased (P<0.05). In urinary PD components, with the increase of dietary energy level, uric acid excretion was linearly increased (P<0.05), allantoin excretion exhibited an increasing trend (0.05≤P≤0.10), however, there were no significant difference in percentages of urinary PD each component excretion in PD excretion among groups (P>0.10). 2) Total digestible nutrient (TDN) intake was linearly increased with dietary energy level increasing (P<0.05), but there was no significant difference in nitrogen intake among groups (P>0.10). With the dietary energy level increasing, urinary nitrogen excretion was linearly decreased (P<0.05), whereas urinary purine nitrogen and purine nitrogen index (PNI) were linearly increased (P<0.05). Ruminal MN production and microbial protein synthesis efficiency（MPS）were linearly increased with the dietary energy level increasing (P<0.05). 3) There were higher linear correlations between urinary PD excretion, ruminal MN production and TDN intake, the mathematical equations followed: urinary PD excretion (mmol/d)=18.09TDN intake(kg/d)-1.11 (R^2=0.97); ruminal MN production (g/d)=18.32TDN intake (kg/d)-2.51 (R^2=0.97). 4) There was a higher linear correlation between nitrogen balance (NB) and DE intake (DEI), the mathematical equation followed: NB (g/d)=8.38DEI (MJ/kg BW$^{0.75}$)-3.58 (R^2=0.68). In conclusion, when the dietary CP content is 6.97%, Tibetan sheep requires 0.43 MJ/kg BW$^{0.75}$ DE to maintain nitrogen balance; furthermore, the increase of dietary energy level (DE levels: 8.21 to 11.57MJ/kg) can improve the rumen MN synthesis in Tibetan sheep, and so as in the efficiency of nitrogen utilization, thereby to make up for the scarcity of dietary nitrogen. Therefore, it is feasible to enhance Tibetan sheep's adaptability to low nitrogen stress through

energy supplementation in the cold season of the Tibetan Plateau.

Key words: Tibetan sheep; low nitrogen condition; dietary energy level; urinary purine derivatives; ruminal microbial nitrogen production